MIEUX CAPTURER LE PRINCIPAL GAZ À EFFET DE SERRE

La fixation autotrophique du CO_2 et son optimisation par biologie de synthèse

François Képès

MOTS-CLÉS
Gaz à effet de serre ; CO_2 ; Photosynthèse ; Biologie de synthèse ; Autotrophie ; Environnement.

INTRODUCTION

Nous avons souvent entendu que le dioxyde de carbone ou CO_2 est un gaz à effet de serre. Un tel gaz, répandu dans l'atmosphère, a pour particularité d'absorber le rayonnement thermique émis par la surface terrestre, comme le fait une serre en agriculture. En d'autres termes, plus il y a de CO_2 dans l'atmosphère, plus s'accentue le réchauffement climatique. Comme pour tout autre gaz à effet de serre, se pose donc la question du bilan production/consommation. Le réchauffement climatique résulte d'un excès de production ou d'un défaut de consommation. Notre propos ici concernera la consommation.

MOTIVATION

Pour bien comprendre ce qui suit, il est bon de rappeler ici que le vivant est massivement fondé sur une chimie CHON, c'est-à-dire à base d'atomes de Carbone, Hydrogène, Oxygène et Nitrogène (azote en français). D'autres atomes sont essentiels, mais en quantités plus limitées. Donc, entre autres, un organisme vivant doit couvrir ses besoins en C, en carbone. Existent deux manières de le faire, hétérotrophie et autotrophie. Si l'organisme couvre ses besoins en carbone en fixant le dioxyde de carbone ou CO_2 (molécule inorganique) de l'atmosphère, on dit qu'il est autotrophe ; les autotrophes sont les plantes, les algues et certains micro-organismes comme les cyanobactéries. S'il les couvre en assimilant des composés organiques, on dit qu'il est hétérotrophe. Nous autres humains sommes hétérotrophes et effectivement, notre nourriture nous apporte toutes sortes de composés organiques : protides, lipides, glucides.

À noter que les hétérotrophes comme nous dépendent entièrement des ressources organiques générées par les organismes autotrophes. Même lorsque nous nous nourrissons de viande, cette dernière provient d'animaux "herbivores" qui en dernier ressort ont consommé des plantes ou autres organismes autotrophes. Les relations trophiques (qui mange qui ?) forment donc une pyramide à la base de laquelle se trouvent obligatoirement les autotrophes, ce qui implique aussi qu'ils forment la grande majorité de la masse vivante globale, de la biomasse[1]. En d'autres termes, le carbone de la biomasse, même celle des animaux, provient en dernière analyse du CO_2 fixé par autotrophie.

Il faut savoir que, chaque année, plus de 350 milliards de tonnes de CO_2 atmosphérique sont consommées par la nature grâce a un processus appelé "fixation autotrophique de CO_2". Parmi ces 350 milliards de tonnes, plus de 90 % sont en fait fixés par un cycle de réactions biochimiques appelé le "cycle de Calvin" qui opère chez les plantes, les algues et certains micro-organismes. Le reste, moins de 10 %, utilise d'autres cycles que celui de Calvin : il existe cinq autres cycles biochimiques de fixation du CO_2 connus à ce jour. On utilise le terme "cycle" pour signifier que la suite de réactions biochimiques se referme sur elle-même en un cercle.

Aussi y a-t-il beaucoup d'excitation depuis quelques années à tenter d'améliorer ou remplacer le cycle de Calvin. Une autre option est de porter le cycle de Calvin dans des organismes ne le possédant pas. Ces organismes sont choisis pour leur utilité dans la manufacture humaine ; par exemple, parce qu'ils

---

[1] Les plantes, y compris les algues, représentent plus de 80% de la biomasse terrestre.

VISIT…

LANZAROTE Caliente.COM

produisent des composés utiles. En pareil cas, la production par ces organismes, au lieu de se faire au détriment de ressources précieuses, va consommer une source de carbone gratuite et abondante, le CO_2. Notons au passage que de tels organismes, cultivés à grande échelle, représenteraient des puits de carbone. Cette excitation a donné lieu à des réalisations concrètes, parce que récemment les outils à la disposition des biotechnologues se sont largement affinés, avec l'arrivée de la "biologie de synthèse".

Ouvrons une brève parenthèse pour résumer ce qu'est la biologie de synthèse (Képès, 2011). La biologie de synthèse est l'ingénierie rationnelle de la biologie. Le but de ce domaine émergé en 2004 est de concevoir de nouveaux systèmes inspirés par la biologie ou fondés sur ses composants. Elle fait progresser les connaissances sur le monde vivant. Également, elle permet de développer de nombreuses applications industrielles dont le potentiel économique est considérable. Enfin, elle vise à réduire dans les biotechnologies l'impact environnemental, l'empreinte carbone, et les coûts et délais de mise sur le marché de nouveaux produits.

La biologie de synthèse a ouvert un champ de créativité dans lequel se sont engouffrés des chercheurs de grand talent, entre autres dans le domaine de la fixation autotrophique de CO_2. Avant de nous engager dans cette voie, faisons le tour des autres objectifs que la biologie de synthèse vise dans le cadre de l'agriculture. Voici la liste des objectifs des modifications apportées aux plantes :

- modifier leur métabolisme à fins de bioproduction de composés chimiques utiles ;
- optimiser leur croissance ;
- altérer leur composition pour faciliter leur usage ;
- recourir à moins de produits phytosanitaires ;
- les adapter au changement climatique ;
- permettre aux céréales d'utiliser l'azote atmosphérique ;
- améliorer leur photosynthèse et fixation de CO_2.

PHOTOSYNTHÈSE

À ce stade, rappelons que la photosynthèse est le processus de fabrication de matière organique comme les glucides à partir de :

- l'énergie lumineuse du soleil,
- l'eau H_2O venant du sol par les racines,
- le dioxyde de carbone CO_2 venant de l'atmosphère par les feuilles.

Ce processus libère de l'oxygène O_2 dans l'atmosphère (Figure 1). Il permet aux organismes photosynthétiques d'accumuler des composés CHON comme les glucides et ainsi de croître en satisfaisant leurs besoins énergétiques. Parlant d'énergie, notons que la puissance moyenne captée par la photosynthèse à l'échelle de la planète avoisine 150 millions de millions de Watts, ce qui équivaut à environ 5 fois la consommation énergétique de l'humanité.

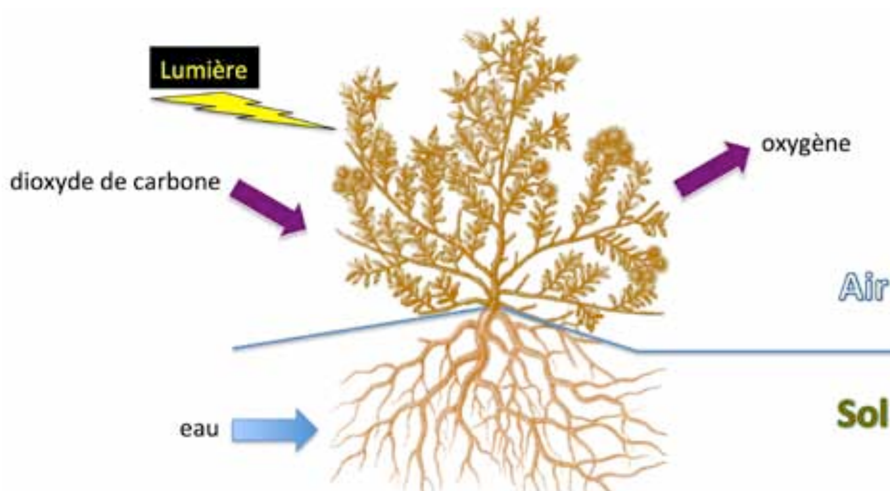


Figure 1. Photosynthèse par une plante.

Une équation chimique simplifiée de la photosynthèse ressemblerait à ceci :



$CO_2 + H_2O$ [+ lumière] → $CH_2O + O_2$

étant entendu que CH_2O est une partie d'un glucide, par exemple **1/6ème** du sucre simple appelé "glucose"[2] qui pourrait donc s'écrire $(CH_2O)_6$. Pour décrire la photosynthèse d'une molécule de glucose, il conviendrait donc de multiplier par **6** tous les termes de l'équation chimique ci-dessus (Film d'animation). À partir de tous les CH_2O synthétisés, plus d'autres atomes comme l'azote N, l'organisme photosynthétique va produire l'ensemble des composés qui sont nécessaires à sa vie et sa croissance. Cette croissance serait particulièrement lente, au point d'être incompatible avec la vie, si les milliers de réactions biochimiques requises n'étaient pas accélérées très fortement par des catalyseurs (accélérateurs de réaction chimique, que l'on retrouve intacts à la fin de celle-ci). Dans les cellules vivantes, les catalyseurs sont presque toujours des protéines appelées enzymes. Il existe donc des milliers d'enzymes différentes dans la cellule, chargées chacune d'accélérer une ou quelques réactions biochimiques. Les facteurs d'accélération sont variables mais souvent de plusieurs millions ou milliards.

Pour en revenir à la photosynthèse, au sens large elle comporte deux phases, une phase lumineuse et une phase "métabolique" indépendante de la lumière (Figure 2). La phase lumineuse fait appel à des centres réactionnels incluant des pigments comme la chlorophylle ; elle transforme l'énergie lumineuse en énergie biochimique, et recycle des cofacteurs biochimiques pour qu'ils reviennent à leur forme adéquate en vue de la phase métabolique qui suit. C'est cette phase métabolique qui permet d'aboutir aux sucres par des cycles chimiques au premier rang desquels le cycle de Calvin brièvement décrit plus haut.

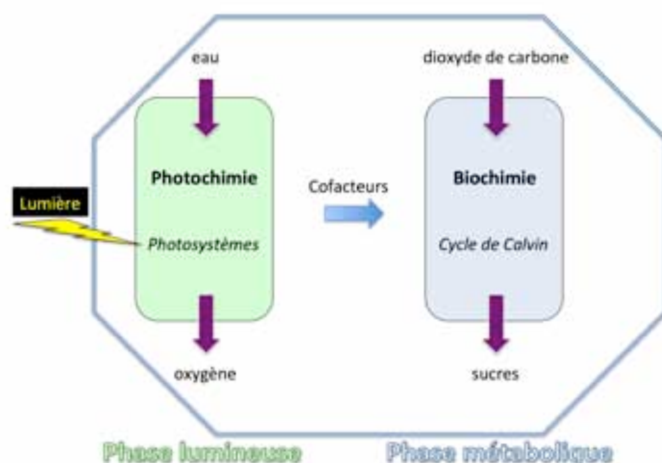


Figure 2. Les deux phases de la photosynthèse.

Après ces explications de contexte, reprenons notre propos sur la fixation autotrophique du CO_2, et sur son optimisation par la biologie de synthèse.

FIXATION AUTOTROPHIQUE DU CARBONE

Nous avons vu que le cycle de Calvin est la source principale (≥ 90 %) de la fixation du CO_2 dans les organismes autotrophes. Cet ensemble de réactions biochimiques se refermant sur lui-même peut être subdivisé en trois phases.

Phase 1 : fixation du dioxyde de carbone ou CO_2.
Cette réaction fait intervenir un sucre à 5 carbones, le ribulose, qui en réagissant avec le CO_2, gaz à 1 carbone, fournit deux molécules identiques ayant chacune 3 carbones, appelées glycérate. Elle est catalysée par une enzyme appelée RuBisCo.

---

2 présent dans le miel par exemple.

Phase 2 : réduction d'un des deux glycérates en glycéraldéhyde qui est un sucre à 3 carbones.

Phase 3 : en plusieurs étapes, régénération de 3 ribuloses à 5 carbones à partir de 5 glycéraldéhydes à 3 carbones.

On voit que le cycle est bouclé avec la régénération du ribulose. Cependant, dans cette description simplifiée, l'accent a été mis sur le devenir des carbones. Ont été omis les cofacteurs pourtant essentiels aux réactions d'oxydo-réduction, ceux-là mêmes qui sont régénérés par la réaction lumineuse de la photosynthèse, comme résumé plus tôt. Ont aussi été passées sous silence les réactions de phosphorylation ou déphosphorylation pourtant essentielles pour les transactions énergétiques du cycle.

Au vu de l'importance cruciale de la photosynthèse pour l'existence même du monde vivant, le cycle de Calvin est central. Or il souffre de défauts. L'un de ses pires défauts tient au double rôle de l'enzyme RuBisCo. La RuBisCo est la protéine la plus abondante du monde vivant, en raison de son rôle central puisqu'elle fixe le carbone atmosphérique dans la biomasse végétale, mais aussi en conséquence de sa relative lenteur, et enfin de son inefficacité car RuBisCo catalyse (accélère) deux réactions. La première a été décrite plus tôt, elle consiste à combiner le ribulose au CO_2 : on parle de carboxylation. Mais la seconde consiste à combiner le ribulose au O_2, l'oxygène : on parle de photorespiration. Comme le ribulose est concerné dans les deux cas, ces deux réactions de carboxylation et de photorespiration sont en compétition. En moyenne, la carboxylation l'emporte sur l'oxygénation dans un rapport d'environ 4, donc globalement il y a bien fixation de CO_2 durant la phase lumineuse, en journée.

Améliorer ou remplacer le cycle de Calvin, notamment en optimisant le fonctionnement de RuBisCo, est donc un défi d'autant plus passionnant qu'il touche à la source même de toute la biomasse terrestre (Morot-Gaudry, 2018; 2020; Képès, 2021).

CYCLE OPTIMISÉ TOTALEMENT SYNTHÉTIQUE

En 2016 paraissait un article assez révolutionnaire (Schwander, 2016), dans lequels ses auteurs allemands appliquaient les principes de la biologie de synthèse pour remplacer le cycle de Calvin par un cycle totalement différent, totalement artificiel, mais rendant les mêmes services avec un meilleur rendement. Précisons d'emblée que leur cycle synthétique, dont l'acronyme était "CETCH", ne fonctionnait en 2016 que dans l'éprouvette, *in vitro*, et non dans le vivant, *in vivo*. Nous parlerons plus tard des tentatives de l'insérer dans un système plus grand, voire une cellule vivante.
Au total, ce cycle artificiel CETCH comporte 17 enzymes différentes (dont certaines altérées par génie enzymatique) issues de neuf organismes appartenant aux trois domaines du vivant, une performance rare. Il convertit efficacement le CO_2 en molécules organiques.

Suivant la philosophie de la biologie de synthèse, les travaux de ces auteurs comportent deux grandes phases, conception puis construction.

A) Conception
1) Identification d'une carboxylase efficace

Ces chercheurs ont classé des carboxylases naturelles de divers organismes selon leur efficacité dans la réaction de carboxylation normalement effectuée par la RuBisCo. Une part de leur efficacité tient à l'absence de la réaction parasite de photorespiration.

2) Rétrosynthèse métabolique

Partant de cette carboxylation qu'on va appeler réaction 0, ils sont remontés vers la réaction précédente, dite -1, dans le cycle en cours de conception. Plusieurs possibilités existent pour cette réaction -1. Pour chaque possibilité en -1, ils sont ensuite remontés à ce que pourraient être des réactions possibles se produisant encore avant, dites -2. Et ainsi de suite. Si comme souvent il y a plusieurs possibilités pour toute réaction amont, on se retrouve vite avec un immense arbre de combinaisons possibles. Or l'objectif est de déterminer le meilleur chemin dans cet arbre touffu, donc de déterminer le meilleur ensemble de réactions successives finissant par la carboxylation 0.

3) Élagage

Pour élaguer l'arbre touffu en ne gardant qu'une branche à chaque niveau, les auteurs ont utilisé une série de critères. En particulier, chaque réaction doit être possible au plan thermodynamique ; par exemple, elle ne se produirait pas si pour avoir lieu, elle réclame de l'énergie qui ne lui est pas fournie. Ou encore, le cycle global s'arrêterait rapidement si les cofacteurs biochimiques n'étaient pas régénérés. En outre, un cycle synthétique intéressant doit produire beaucoup d'énergie sous forme biochimique. L'arbre est tellement touffu qu'une inspection à l'œil nu n'y suffit pas. Les chercheurs disposent d'outils informatiques pour appliquer l'ensemble de ces critères à l'élagage.

4) Identification d'enzymes candidates

Pour chaque réaction du futur cycle, des enzymes capables de la catalyser doivent être identifiées dans la littérature scientifique et dans les bases de données alimentées par les chercheurs du monde entier.

B) Construction

1) Vérification des enzymes candidates

Une à une, les enzymes identifiées en A4) sont maintenant caractérisées à la paillasse en mesurant leurs paramètres.

2) Reconstruction de la voie métabolique

Dans la même éprouvette sont réunies toutes les enzymes requises pour la voie métabolique cyclique. En ajoutant les réactifs initiaux, le flux de leurs transformations successives à travers cette voie est mesuré.

3) Optimisation de la voie métabolique

À ce stade, des modifications destinées à harmoniser le fonctionnement de la voie métabolique dans son entier deviennent nécessaires. Par exemple, il est indispensable de s'assurer du recyclage des cofacteurs afin que la voie puisse "tourner" cycliquement. Durant cette étape, certaines enzymes vont être altérées par génie enzymatique pour favoriser l'activité catalytique souhaitée.

4) Évaluation finale du cycle métabolique complet

La voie cyclique est mise en œuvre, et les paramètres globaux sont mesurés et comparés au cahier des charges initial. Si besoin est, l'expérimentaliste revient à l'étape précédente.

DÉBUT D'APPLICATIONS DE CE CYCLE SYNTHÉTIQUE

Bien entendu, un long chemin reste à effectuer pour insérer ce cycle synthétique dans un métabolisme photosynthétique complet. La même équipe, collaborant avec une équipe française de microfluidique, a franchi en 2020 une étape en couplant le cycle synthétique CETCH décrit dans la section précédente à des membranes photosynthétiques isolées à partir de feuilles d'épinard (Miller et al., 2020).

Un autre objectif serait de transposer un cycle fonctionnant dans l'éprouvette au sein d'une cellule vivante. Quelques étapes vers cet objectif ont récemment été franchies (Figure 3). En particulier, l'équipe allemande a modifié profondément le métabolisme d'une bactérie afin d'y introduire le cycle de Calvin pour fixer le CO_2 (Schada von Borzyskowski, 2018).

Indépendamment, des équipes autrichiennes ont altéré le métabolisme d'une levure hétérotrophe d'intérêt industriel pour la rendre autotrophe, capable de pousser en continu avec pour seule source de carbone du CO_2 (Gassler, 2020).

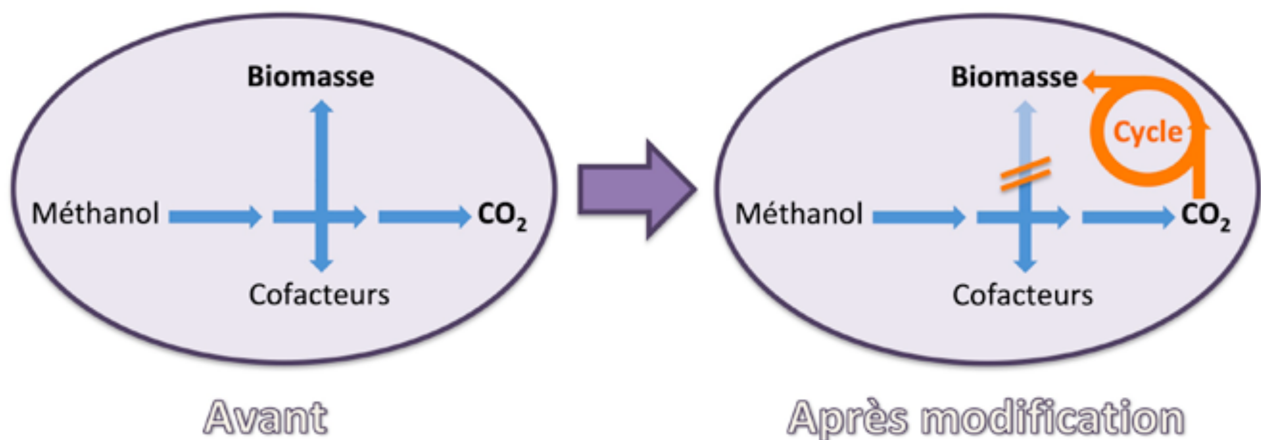


Figure 3. Fixation du CO_2 par une bactérie altérée *(modifications en orange).*

CONCLUSION

Ces approches novatrices ne font actuellement qu'effleurer le monde vivant, généralement celui des microorganismes. Quand elles seront ancrées dans le monde vivant, resteront encore à valider des solutions appropriées aux conditions du champ, pour lequel d'autres facteurs environnementaux (météo, engrais) viennent limiter la production de biomasse. Certains chercheurs imaginent d'implanter en dehors du monde vivant des solutions à grande échelle, dont l'avantage évident est une manipulation aisée et une grande liberté créative. Cependant, ces solutions perdent en même temps les avantages du monde vivant, en particulier la croissance rapide et prolongée, la stabilité et l'auto-réparation. Nous voyons ici se dessiner les termes d'un compromis entre les solutions basées ou non sur le vivant ; compromis qui évoluera avec les progrès techniques. Toutefois, il est trop tôt pour savoir quelles seront les avancées qui mèneront à des innovations à grande échelle, parmi celles qui viennent d'être discutées ou d'autres qui n'ont pas encore percé.

RÉFÉRENCES

- Gassler T et al. The industrial yeast *Pichia pastoris* is converted from a heterotroph into an autotroph capable of growth on CO_2. Nat Biotechnol. 2020 February ; 38(2): 210–216.
- Képès F. La biologie de synthèse, plus forte que la Nature ? Le Pommier, 2011.
- Képès F. Apport de la biologie de synthèse en agriculture. *In* Chimie et agriculture durable (EDP Sciences, à paraître), 2021.
- Miller TE et al. Light-powered CO_2 fixation in a chloroplast mimic with natural and synthetic parts. Science. 2020 May 8;368(6491):649-654.
- Morot-Gaudry JF, Boudet AM. La photosynthèse du futur, vers l'amélioration d'un processus biologique fondamental. Publication 2 de la Fondation de l'Académie des technologies, 2018.
- Morot-Gaudry J-F, Pernollet J-C. Les cyberchloroplastes et la photosynthèse artificielle. Académie d'agriculture de France, 2020.
- Schada von Borzyskowski L et al. An engineered Calvin-Benson-Bassham cycle for carbon dioxide fixation in *Methylobacterium extorquens* AM1. Metab Eng. 2018 May;47:423-433.
- Schwander T et al. A synthetic pathway for the fixation of carbon dioxide *in vitro*. Science. 2016 Nov 18;354(6314):900-904.

Film d'animation sur le bilan de la photosynthèse :
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d3/Photosynthèse.gif

CV DE L'AUTEUR

François Képès est un biologiste cellulaire dont les approches mêlent les biologies moléculaire, des systèmes et de synthèse, et les microscopies.
François Képès est membre de l'Académie des technologies, et membre correspondant de l'Académie d'Agriculture de France. Il est co-fondateur du Programme d'Épigénomique (Genopole), et fondateur de l'institut de Biologie des Systèmes et de Synthèse (iSSB — Genopole, CNRS, Univ. Évry) et du master éponyme (mSSB — Université Paris-Saclay). Normalien, il fut Professeur associé à l'École Polytechnique et au Politehnica de Bucarest, Professeur invité au Collège Impérial de Londres et Directeur de recherche au CNRS.
Auteur de plus de 130 articles ou chapitres scientifiques, et auteur ou éditeur de plus de 25 livres, François Képès a de 2003 à 2018 organisé ou présidé 3-7 manifestations scientifiques internationales par an. Il est éditeur de quatre journaux scientifiques internationaux dont "Synthetic Biology". Il est expert auprès d'agences de moyen européennes et nord-américaines.